

- of S100 Proteins[J]. Cur Mole Med, 2013, 13(1): 24-57.
- [13] ALEXANDRU S, COTOI O S. S100A8 and S100A9: DAMPs at the crossroads between innate immunity, traditional risk factors, and cardiovascular disease[J]. Med Inflam, 2013, 20 (3): 828-834.
- [14] GARCIA-ARIAS M, PASCUAL-SALCEDO D, RAMIRO S, et al. Calprotectin in rheumatoid arthritis: association with disease activity in a cross-sectional and a longitudinal cohort [J]. Mole Dia Ther, 2013, 17(1): 49-56.
- [15] HURNAKOVA J, HULEJOVA H, ZAVADA J, et al. Serum calprotectin may reflect inflammatory activity in patients with active rheumatoid arthritis despite normal to low C-reactive protein[J]. Clin Rheumatol, 2018, 20 (2): 1-8.
- [16] CHOI I Y, GERLAG D M, HERENIUS M J, et al.
- 短篇论著 •

- MRP8/14 serum levels as a strong predictor of response to biological treatments in patients with rheumatoid arthritis [J]. Ann Rhe Dis, 2015, 74(3): 499-505.
- [17] HULEJOVA H, MANN H, ZAVADA J, et al. Serum calprotectin (S100A8/9): an independent predictor of ultrasound synovitis in patients with rheumatoid arthritis [J]. Arth Res Ther, 2015, 17(1): 252.
- [18] HAMMER H B, HAAVARDSHOLM E A, KVIEN T K. Calprotectin (a major leucocyte protein) is associated with the levels of anti-CCP and rheumatoid factor in a longitudinal study of patients with very early rheumatoid arthritis[J]. Scand J Rheumatol, 2008, 37(3): 179-182.

(收稿日期: 2018-10-30 修回日期: 2019-01-15)

广州低龄婴儿侵袭性 B 族链球菌血清型分布^{*}

关小珊, 雷娟梅, 钟华敏, 谢永强, 刘海英[△]

(广州市妇女儿童医疗中心检验科, 广东广州 510120)

摘要:目的 调查广州地区低龄婴儿侵袭性 B 族链球菌(GBS)的血清型分布, 为 GBS 疫苗的研发与应用提供依据。**方法** 采用乳胶凝集法对确诊病例的临床分离株进行血清学分型; 分析不同血清型与 GBS 感染的发病时间及疾病类型之间的相关性。**结果** 选取 2014 年 1 月至 2016 年 12 月该院共分离侵袭性 GBS 61 株, 分别检测出Ⅲ型 45 株(74%)、I b 型 11 株(18%)、V 型 3 株(5%)、I a 型 2 株(3%); 其中Ⅲ型和 I b 型分别占早发感染的 61% 和 30%, 晚发感染的 82% 和 10%。6 例早发感染脑膜炎中, I b 型占 67%; 20 例晚发感染脑膜炎中, Ⅲ型占 75%。**结论** 广州地区低龄婴儿侵袭性 GBS 感染以Ⅲ型和 I b 型为主, 其中Ⅲ型菌株具有较强的致病性, 可导致大比例的侵袭性疾病。

关键词: 新生儿; B 族链球菌; 血清型

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2019. 06. 025

文章编号: 1673-4130(2019)06-0735-03

中图法分类号: R725. 1

文献标识码: B

B 族链球菌(GBS)是引起新生儿重症肺炎、败血症和脑膜炎等严重感染性疾病的主要致病菌, 亦是导致新生儿死亡的主要原因之一。根据 GBS 细胞壁型特异荚膜多糖(CPS)不同将其分为 I a、I b、Ⅱ~Ⅸ型共 10 种血清型, 各血清型间毒力因子含量不一, 对机体的侵袭作用强弱不等, 所引起的临床感染和预后也有明显差异。研究者在前期完成的多中心调查研究表明, 我国新生儿 GBS 感染的形势严峻, 发病率高于亚洲的平均水平^[1]。本文采用乳胶凝集法对近 3 年内收集的低龄婴儿中引起败血症和脑膜炎的 GBS 临床分离株进行血清学分型, 并分析不同血清型与 GBS 感染的发病时间、疾病类型之间的相关性, 为 GBS 疫苗的研发与应用提供科学依据, 并为 GBS 感染患儿的临床诊治提供指导。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 1 月至 2016 年 12 月广州市妇女儿童医疗中心收治的、无菌部位 GBS 培养阳性的低龄婴儿(0~89 d)为研究对象, 通过病案系统逐个查阅病历; 标本来源于研究对象的血液及脑脊液标本, 均为非重复菌; 根据发病时间(出生到无菌部位首次培养出 GBS 的时间), 分为早发型感染(EOD), 0~6 d 和晚发型感染(LOD), 7~89 d; 败血症诊断符合中华医学会儿科学分会制定的新生儿败血症确诊标准^[2]; 脑膜炎诊断符合第 4 版《实用新生儿学》新生儿化脓性脑膜炎诊断标准^[3]。本研究方案通过广州市妇女儿童医疗中心医学伦理委员会的审查批准。

1.2 仪器与试剂 法国生物梅里埃公司 VITEK 2 COMPACT 全自动细菌鉴定和药敏分析仪和配套

* 基金项目: 广州市医药卫生科技一般引导项目(20151A010034); 广州市科创委一般项目(201804010447)。

△ 通信作者, E-mail: xiangliuhaiying@aliyun. com。

本文引用格式: 关小珊, 雷娟梅, 钟华敏, 等. 广州低龄婴儿侵袭性 B 族链球菌血清型分布[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(6): 735-737.

GP 鉴定卡及药敏卡;美国 BD 公司 BACTECTMFX 全自动血培养仪和配套 BACTEC 儿童专用培养瓶;血琼脂培养基购自广州迪景公司,血清分型试剂盒购自丹麦 SSI 公司,质控菌株为肺炎链球菌 ATCC49619,购自国家卫计委临床检验中心。

1.3 方法

1.3.1 GBS 分离培养和鉴定 严格无菌操作,取静脉血 1~3 mL 或脑脊液 0.5~3.0 mL 接种于 BD 公司 BACTEC 儿童专用培养瓶中,采用 BACTECTM-FX 全自动血培养仪进行培养;对报警阳性的培养瓶及时转种血琼脂培养基;采用 VITEK 2 COMPACT 全自动微生物鉴定仪进行细菌鉴定。配置 GBS 菌种保存液,把收集到的所有菌株置-80℃冰箱保存。

1.3.2 血清学分型 将临床分离株从-80℃冰箱取出复苏及增菌。使用 Strep-B-Latex® 快速乳胶凝集试剂盒对菌体抗原进行血清分型:准备 220 μL 浓菌悬液,每孔分别加入 20 μL 的细菌悬液及 5 μL 的胶乳试剂(兔抗血清 I a、I b 和 II~IX),充分混匀轻摇 15~30 s,30 s 内出现凝集为阳性。

1.4 统计学处理 统计分析不同血清型与 GBS 感染性疾病的发病时间(早发型与晚发型)、临床特征及疾病类型之间的相关性。采用 SPSS20.0 统计学软件进行分析,计数资料采用[n(%)]表示,组间比较直接使用 Fisher 确切概率法, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 侵袭性 GBS 血清型分布 2014 年 1 月至 2016 年 12 月期间,本院分离侵袭性 GBS 菌株 61 株,共检测出 4 种血清型,其中 III 型 45 株,所占比例高达 74%;其次为 I b 型 11 株,占 18%;余为 V 型 3 株和 I a 型 2 株,分别仅占 5%和 3%。根据发病时间,EOD 以 III 型和 I b 型为主,分别占 61%和 30%;LOD 同样以 III 型和 I b 型多见,分别占 82%和 10%;EOD 和 LOD 血清型分布比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 EOD 与 LOD 血清型分布比较[n(%)]

项目	n	I a	I b	III	V
EOD	23	0(0)	7(30)	14(61)	2(9)
LOD	38	2(5)	4(10)	31(82)	1(3)
χ^2		—	2.613	3.716	—
P		0.522	0.106	0.075	0.551

注:—表示无数据

2.2 临床表现与血清型分布 23 例 EOD 中男 17 例,女 6 例。败血症 7 例,其中 III 型 5 例(71%);败血症合并肺炎 7 例,其中 III 型 6 例(86%);合并化脓性脑膜炎 6 例,其中 III 型 2 例(33%),I b 型 4 例(67%),见表 2。呼吸道症状如气促、呻吟、发绀为最常见的临床表现,其次为发热和反应差。38 例 LOD

中男 16 例,女 22 例。败血症 7 例,败血症合并肺炎 4 例,败血症合并化脓性脑膜炎 8 例,III 型均占 100%;化脓性脑膜炎 12 例,其中 III 型 7 例(59%),I b 型 4 例(33%),见表 3。发热为该类型大多数病例的唯一表现,1/3 病例有抽搐、反应差等神经系统症状。

表 2 EOD 主要临床疾病的血清型分布[n(%)]

临床诊断	n	I a	I b	III	V
败血症	7	0(0)	0(0)	5(71)	2(29)
败血症合并肺炎	7	0(0)	1(14)	6(86)	0(0)
败血症合并化脓性脑膜炎	6	0(0)	4(67)	2(33)	0(0)
其他	3	0(0)	2(67)	1(33)	0(0)

表 3 LOD 主要临床疾病的血清型分布[n(%)]

临床诊断	n	I a	I b	III	V
败血症	7	0(0)	0(0)	7(100)	0(0)
败血症合并肺炎	4	0(0)	0(0)	4(100)	0(0)
败血症合并化脓性脑膜炎	8	0(0)	0(0)	8(100)	0(0)
化脓性脑膜炎	12	0(0)	4(33)	7(59)	1(8)
其他	7	2(29)	0(0)	5(71)	0(0)

3 讨论

GBS 一直是欧美等国家新生儿及婴儿感染的重要病原体^[4],我国对 GBS 感染的研究起步较晚,近年来随着对疾病的认识判断及实验室对菌株鉴定水平的不断提高,散发的病例报道逐渐增多^[5-6]。目前,GBS 感染的预防策略主要为常规筛查和产时抗菌药物预防(IAP)。尽管 IAP 策略的实施已显著降低 GBS-EOD 的发病率,但 GBS-LOD 的发病率却没有显著影响^[7];此外,随着抗菌药物的使用,增加了药物过敏反应的危险,也可能导致新生儿病原菌耐药性的发展^[8]。因此,GBS 疫苗研发对减低 GBS 感染的疾病负担存在着巨大的潜力和前景。

在全球范围内,不同国家及地区,因地理位置、气候因素、遗传因素的差异,GBS 感染的菌型谱可能存在明显的差异。欧美等国家最常见的血清型为 V、II、III 和 I a 型^[9-10],而南非则以 III 和 I a 型多见^[11]。本次调查共检出 4 种血清型,分别为 I a、I b、III 和 V 型,其中以 III 型和 I b 型为主,分别占 GBS-EOD 的 61%和 30%,GBS-LOD 的 82%和 11%,这与北京报道的来自深圳市儿童医院 GBS 菌株的血清型分布情况大致相符^[12]。由此可推测我国南方地区低龄婴儿 GBS 感染主要血清型的流行趋势,为针对地区性的 GBS 荚膜多糖结合疫苗的研发提供方向指导。

韩国一项有关 GBS 血清型流行病学的研究显示,超过 50%的脑膜炎由 III 型菌株引起^[13]。本课题结果显示,65%(17/26)的脑膜炎由 III 型菌株引起,败血症合并肺炎病例中 91%(10/11)也与 III 型菌株有关,因此 III 型菌株不仅引起较大比例的化脓性脑膜

炎,且与肺炎密切相关。这可能与 GBS 各血清型间毒力因子的含量与成分不一有关,在已知的 10 种血清型中,Ⅲ型菌株具有特殊的限制性内切酶消化模式,该模式的菌株含有编码表面锚定蛋白 Scpl 的独特基因 Scpl,对组成血脑屏障的内皮细胞和新生儿肺组织具有高侵袭力^[14],也有学者认为Ⅲ型菌株具有独特的致病特征,可更容易引发或可导致更多的侵袭性疾病^[15]。因此,Ⅲ型 GBS 菌株的高致病性不可忽视,应引起临床的高度重视,应用抗菌药物治疗与预防应谨慎。

本次研究的 61 例侵袭性 GBS 感染中,26 例伴有化脓性脑膜炎,其中 65% 为Ⅲ型,31% 为 I b 型引起。23 例 EOD 病例中,6 例被诊断伴有化脓性脑膜炎,血清型分布为 I b 型占 67%,Ⅲ型占 33%。而 38 例 LOD 病例中有 20 例被诊断伴有化脓性脑膜炎,75% 为Ⅲ型,20% 为 I b 型。以上结果显示,虽然总体 GBS 感染化脓性脑膜炎病例中以Ⅲ型菌株为主,但引起早发型感染与晚发型感染化脓性脑膜炎的主要血清型存在差异,EOD 中以 I b 型为主,而 LOD 中以Ⅲ型为主。这一情况暂无相关研究数据,笔者认为这可能与菌株在不同感染类型中的致病机制差异有关,也可能存在研究病例的代表性不够,具体相关性和致病机制差异与否难以明确,有待研究。

综上所述,GBS 仍是世界范围内新生儿感染的主要细菌性病原。目前,GBS 荚膜多糖蛋白结合疫苗的研发已进入临床试验Ⅲ期,通过母体免疫预防新生儿 GBS 感染是未来有效控制 GBS 感染的重要方向。持续监测 GBS 流行趋势,充分了解不同地区的血清型分布特点,是确定有效疫苗成分和制定免疫策略的基础。

广州地区低龄婴儿侵袭性 GBS 感染以Ⅲ型和 I b 型为主,其中Ⅲ型菌株具有较强的致病性,可导致大比例的侵袭性疾病。

参考文献

- [1] LIU H Y,ZENG H L,WANG W D,et al. Estimating the burden of invasive Group B Streptococcal disease in young infants in southern mainland China:an observational study[J]. Int J Clin Exp Med,2015,8(8):13699-13707.
- [2] 中华医学会儿科学分会新生儿学组,中华医学会《中华儿科杂志》编辑委员会. 新生儿败血症诊疗方案[J]. 中华儿科杂志,2003,41(12):897-899.
- [3] 邵肖梅,叶鸿瑁,丘小汕. 实用新生儿学[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社,2011:347-351.
- [4] OKIKE I O,JOHNSON A P,HENDERSON K L,et al. Incidence,etiology,and outcome of bacterial meningitis in infants aged less than 90 days in the United Kingdom and Republic of Ireland:prospective,enhanced,National popu-

- lation-based surveillance [J]. Clin Infect Dis, 2014, 59 (10):150-157.
- [5] 李娟,高坎坎,曾兰兰,等. 新生儿 B 族链球菌脑膜炎的临床特征和血清分型[J]. 实用医学杂志,2018,34(4):609-612.
- [6] 刘志勇,许景林,王瑞泉,等. 新生儿 B 族链球菌败血症 33 例临床分析[J]. 中国小儿急救医学,2016,23(4):248-251.
- [7] SCHRAG S J,VERANI J R. Intrapartum antibiotic prophylaxis for the prevention of perinatal group B streptococcal disease:experience in the United States and implications for a potential group B streptococcal vaccine[J]. Vaccine, 2013,31(4):20-26.
- [8] 黄莲芬,刘海英,黄映红,等. 广州地区新生儿败血症和脑膜炎 B 族链球菌分离株药敏分析[J]. 广东医学,2016,37(12):1873-1876.
- [9] BERGAL A,LOUCIF L,BENOURETH D E,et al. Molecular epidemiology and distribution of serotypes, genotypes,and antibiotic resistance genes of Streptococcus agalactiae clinical isolates from Guelma,Algeria and Marseille,France[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2015,34(12):2339-2348.
- [10] DUTRA V G,ALVES V M,OLENDZKI A N,et al. Streptococcus agalactiae in Brazil:serotype distribution, virulence determinants and antimicrobial susceptibility [J]. BMC Infect Dis,2014,14(1):323-331.
- [11] DANGOR Z,CUTLAND C L,IZU A,et al. Temporal changes in invasive group B streptococcus serotypes; implications for vaccine development[J]. PLoS One,2016, 11(12):e0169101.
- [12] WANG P,MA Z Y,TONG J J,et al. Serotype distribution,antimicrobial resistance,and molecular characterization of invasive group B Streptococcus isolates recovered from Chinese neonates[J]. Int J Infect Dis,2015,37(1): 115-118.
- [13] YOON I A,JO D S,CHO E Y,et al. Clinical significance of serotype V among infants with invasive group B streptococcal infections in South Korea[J]. Int J Infect Dis, 2015,38(1):136-140.
- [14] ADDERSON E E,TAKAHASHI S,WANG YAN,et al. Subtractive hybridization identifies a novel predicted protein mediating epithelial cell invasion by virulent serotype III group B Streptococcus agalactiae[J]. Infect Immun, 2003,71(12):6857-6863.
- [15] MANNING S D,SPRINGMAN A C,LEHOTZKY E,et al. Multilocus sequence types associated with neonatal group B streptococcal sepsis and meningitis in Canada [J]. J Clin Microbiol,2009,47(4):1143-1148.